Beitrag

zur

Kenntnis der Glutinpeptone.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

hohen philosophischen Fakultät

der

Kgl. bayer. Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt von

Otto Dormann
aus Dierdorf.

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Juli 1904.

ACAD. LIBRARY BIBL.

Erlangen 1904.
Druck der Univ.-Buchdruckerei von E. Th. Jacob in Erlangen.

Gedruckt mit Genehmigung der hohen philosophischen Fakultät der Universität Erlangen.

Referent: Herr Professor Dr. C. Paal.

Dekan: Herr Professor Dr. Geiger.

Meinen lieben Eltern

gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549826_0143

Einleitung.

Wenn auch auf allen Gebieten der Chemie von Tag zu Tag neue interessante Entdeckungen gemacht werden, und besonders in der organischen Chemie die Reihe der neu hergestellten Verbindungen, der Ausdruck Kompositionen wäre vielleicht zutreffender, fast in's Unendliche wächst, so haben wir jedoch immer noch ein spezielles Gebiet gerade in der organischen Chemie, welches an den modernen Chemiker noch schwere Aufgaben stellen dürfte.

Dieses Gebiet umfasst jene zahlreiche Gruppe von Substanzen, welche als Proteïnstoffe zusammengefasst werden.

Im Verhältnis zu den anderen Zweigen der Chemie, ist es erstaunlich, welch' geringe Resultate bisher bei der Erforschung dieser Körper erzielt wurden.

In folgendem sei es mir gestattet, eine kurze Zusammenstellung der bisherigen Resultate auf dem Wege zur Ergründung dieser Körper, die eine so grosse Rolle in physiologischer Beziehung spielen, zu geben.

Wenn nun auch die Konstitution der Eiweisskörper bisher sehr wenig aufgeklärt ist, so ist doch durch das Eingehen auf das Wesen der Spaltungsprodukte ein gewisser Einblick in den Bau dieser höchst komplizierten Stoffe gewonnen worden.

Um den synthetischen Aufbau eines Körpers verwirklichen zu können, ist es bekanntlich die erste

Aufgabe, sich mit dem Studium seiner Spaltungsprodukte zu befassen.

Einer der ersten, der über Spaltungsverfahren und Spaltungsprodukte berichtet, ist Meissner[1]).

Derselbe kannte bereits zwei Spaltungsmethoden:

1. die fementative (physiologische) Spaltung,
2. die chemische Spaltung.

Bei dem ersteren Spaltungsverfahren, haben wir zunächst eine Zersetzung, hervorgerufen durch Bakterien — die Fäulnis —, bei welcher jedoch das Eiweissmolekül derart verändert und zertrümmert wird, dass es uns an der Hand dieser verschiedenen Produkte, die sowohl der aliphatischen — wie der aromatischen Reihe angehören, schwer ist, sichere Rückschlüsse auf den chemischen Bau des Eiweissmoleküls zu ziehen.

Dann kennt man eine Reihe Enzyme — vor allem Pepsin, Trypsin und Erepsin —, welche das Eiweissmolekül spalten.

Die eiweisslösenden Eigenschaften des Magensaftes, welcher das Pepsin gelöst enthält, wurde zuerst von Réaumur[2]) und Spallanzani[3]) erkannt und später des weiteren von Beaumont[4]), Schwann[5]), Bidder und Schmidt[6]) wie Mialhe[7]) erforscht.

---

1) Zeitschr. f. ration. Med. VII. 1, VIII, 260, X, 1, XII, 46, XIV. 303.

2) Mem. de l'acad. des sciences 1752.

3) Expériences sur la digestion, übers. von Michaelis, Leipzig 1785.

4) Neue Versuche und Beobachtungen über den Magensaft und die Physiologie der Verdauung, übers. von Luden, Leipzig 1836.

5) Paggendorfs Ann. Bd. XXXVIII, 358.

6) Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel, Leipzig 1852 pag. 44.

7) Comptes rend. XXIII pag. 260 XXX.

Der französische Arzt Corvisart[1]) erwähnte zuerst, das später von W. Kühne[2]) Trypsin genannte Enzym, welches von der Bauchspeicheldrüse abgesondert, in alkalischer Lösung reagiert.

Aber auch rein chemisch, d. h. durch Behandeln mit Säuren, Alkalien oder Oxydationsmitteln, ist es möglich, Spaltungsprodukte des Eiweisses zu erhalten, welche den durch Euzyme gebildeten sehr ähnlich sein können.

Da nämlich die vorgenannten Euzyme in neutraler Lösung nur wenig reagieren, dagegen sehr energisch bei Gegenwart von Säuren resp. Alkalien, so ist es nicht unwahrscheinlich, dass das wirklich wirkende Agens die betreffenden Säuren und Alkalien bezw. die H- und OH-Jonen darstellen, während die Enzyme die Rolle von Katalysatoren spielen.

Die Produkte beider Prozesse — die Propeptone, Peptone und deren Salze, sowie noch einfache konstruierte Substanzen — dürften unter entsprechenden Bedingungen, wenn nicht dieselben, so doch sehr ähnliche sein.

Durch längere Einwirkung der oben genannten Enzyme, vor allem auch des, erst seit kürzerer Zeit von Cohnheim[3]) genauer untersuchten Erepsins, gleichwie bei Einwirkung der chemischen Agentien in konzentrierter Form oder unter starker Hitzeanwendung oder Druck auf das Albuminmolekül, wird letzteres ähnlich wie bei der Einwirkung von Bakterien in eine grosse Anzahl Verbindungen zersetzt.

---

1) Sur une fonction pen connue du Pancreas, Paris 1858.

2) Verhandl. des naturhistor. Vereins. Heidelberg. N. F. Bd. I, 194, 236.

3) Zeitschr. für physiol. Chemie XXXVI. 13.

Wie nun die Spaltung durch Enzyme und verhältnismässig schwache chemische Mittel zunächst zu Stande kommt, darüber gingen die Ansichten auseinander.

Die einen sahen in diesen Spaltungsprodukten, die als erster Lehmann[1]) Peptone nannte, nur einfache Quellungsprodukte — sog. Imbibitionstheorie —, während andererseits als viel wahrscheinlicher die Spaltung durch Aufnahme von Wasser erklärt wird — hydrolytische Spaltung.

Darüber berichteten bereits Kühne und Chittenden[2]) ebenso wie Danilewsky[3]), der bewies, dass die betreffenden Körper durch Peptonisierung an Gewicht zunehmen, was für die Aufnahme von Wasser spricht.

Die Molekulargewichtsbestimmungen der Eiweissstoffe wurden zu einem weiteren Argument für die hydrolytische Spaltung.

Schon früher war von Sabanejew[4]) das Molekulargewicht des Eiweisses, als etwa 10 000—20 000 Wasserstoffeinheiten entsprechend, bestimmt worden.

C. Paal, welcher als erster die Molekulargewichte der Peptone bestimmte, fand für die Eiweisspeptone Zahlen zwischen 200 und 400.

Dazu kommt noch, dass die Eiweissstoffe, wohl infolge ihres grossen Moleküls, durch die tierische Membran nicht diffundieren, während dies den viel kleineren Molekülen der Spaltungsprodukte möglich ist.

1) Lehrbuch der physiolog. Chemie II. Aufl., Band II pag. 50, Leipzig 1850.

2) Zeitschr. f. Biologie Bd. XIX. 159, XX. 11, XXII. 423 etc.

3) Pflüger, Archiv XXXVI. 246.

4) Journ. der Russ. Phys. Gesellsch. 1893. Ber. chem. Ges. XXVI. 385.

Einen weiteren Beweis für die hydrolytische Spaltung brachte C. Paal.

Wenn man trockne Salzsäure in alkoholische Peptonchlorhydratlösung einleitet, so vermehrt sich dessen Gehalt an gebundener Salzsäure fast gar nicht, während bei Gegenwart von Wasser die Salzsäure weiter spaltend wirkt.

Bei der Oxydation des Eiweisses entstehen hauptsächlich Säuren der Fettreihe — Ameisen-, Essig-, Propion-, Buttersäure — neben kleinen Mengen Benzoesäure und Benzaldehyd.

Von dem grossen Eiweissmolekül muss demnach ein kleinerer Teil zur aromatischen, der weitaus grössere Teil zur Fettreihe gehören.

In seiner Hauptsache dürfte sich wohl das Eiweissmolekül den Ureïden in seiner Konstitution anschliessen.

Durch Guanidinbildung wies nämlich Lossen [1]) eine harnstoffbildende Gruppe im Eiweiss nach.

Drechsel [2]) isolierte das Lysatin, E. Schulze und Steiger [3]) das Arginin, Hedin das Lysin [4]).

Dann zeigte C. Paal [5]), dass die Peptonchlorhydrate durch Wasser verseifbare Aethylester bilden und dass die Peptone als Amidosäuren anzusehen sind, die analog dem Glycocoll u. a. mit Cyanaten Harnstoffe bilden.

Weiterhin, für den Physiologen von ebenso grosser

---

1) Ann. d. Ch. 201, 369.

2) Arch. für Anat. und Physiol. 1891, 248.

3) Zeitschr. für physiolog. Chemie XI, 43 u. Ber. chem. Ges. XIX, 1177.

4) Zeitschr. für physiolog. Chemie XX, 186, XXI. 155, 297.

5) Ber. chem. Ges. XXV, 1208 u. XXIX, 1087.

Wichtigkeit, wie für den Chemiker, wurde bewiesen, dass einzelne Proteinkörper sogar Traubenzucker abspalten können, was durch Elimination der Amidogruppen erklärt wird und zeigt, dass diese Proteinstoffe auch einen Kohlenhydratrest enthalten.

Mit der im Eiweissmolekül enthaltenen aromatischen Gruppe befasst sich Nenki[1]) und nimmt folgende drei Verbindungen an:

1. Paraoxyphenylessigsäure,
2. Phenylessigsäure,
3. Scatolessigsäure.

Verschiedene sehr interessante Theorien stellte Kossel[2]) auf Grund seiner Arbeiten auf.

Er teilte die verschiedenen Komplexe des Eiweissmoleküls in vier Gruppen:

1. Harnstoffbildende Gruppe,
2. Gruppe der Diamidosäuren,
3. Gruppe der Monamidosäuren,
4. Weniger untersuchte Spaltungsprodukte

— Ammoniak, Furfurol, Huminsubstanzen etc. —

Bei seinen Arbeiten mit Bestandteilen von Pflanzen und Tieren fand er in den Spermatozoen von Fischen die Protamine, welche er als die einfachsten Eiweisskörper — sie liefern die für Eiweissstoffe charakterischen Spaltungsprodukte — in den Mittelpunkt des Eiweissmoleküls stellt, um welchen sich die übrigen Komplexe lagern.

Er stellte infolgedessen den Satz auf, dass die grosse Mehrzahl der aus dem tierischen Gewebe isolierten Eiweissstoffe als komplizierte Verbindungen

---

1) Monatschr. für Chem. X, 514.

2) Ber. chem. Ges. XXXIV, 3214.

mehrerer einfacher Eiweisskörper anzusehen seien, gebildet durch Anlagerung von Atomkomplexen an bereits fertige Eiweissmoleküle.

Aus dem bisher am besten untersuchten Eiweisskörper dem Edestin, isolierte er 18 derartige Gruppen als Spaltungsprodukte:

1. Glycocoll,
2. Alanin,
3. Aminovaleriansäure,
4. Leucin,
5. α-Pyrrolidincarbonsäure,
6. Oxy-α-Pyrrolidincarbonsäure,
7. Phenylalanin,
8. Tryptophan,
9. Serin,
10. Asparaginsäure,
11. Glutaminsäure,
12. Cystin,
13. Harnstoff,
14. Diaminovaleriansäure (Ornithin),
15. Tyrosin,
16. Lysin,
17. Hystidin,
18. Ammoniak.

In seiner neusten Arbeit[1]) war es ihm bei der Spaltung des Protamins Salmin nur noch möglich, fünf Spaltungsprodukte herzustellen:

1. Aminovaleriansäure,
2. α-Pyrrolidincarbonsäure,
3. Diaminovaleriansäure,
4. Serin,
5. Harnstoff.

Er kommt also hiermit dem einfachen im Mittelpunkte stehenden Komplexe immer näher.

Alle Eiweissstoffe bestehen aus C, H, N, O, S, einzelne enthalten auch P.

Wenn auch die prozentuale Zusammensetzung der

---

1) Kossel und Darkin, Münch. med. Wochenschr. 51. Jahrgang Nr. 13.

einzelnen Proteïne mehr oder minder von einander abweicht, so liegen doch die Grenzwerte nicht weit auseinander.

C.	50,6 — 54,5 %	O.	21,5 — 23,5 %
H.	6,5 — 7,3 %	S.	0,2 — 2,2 %
N.	15 — 17,6 %	P.	0,42 — 0,85 %

Fast sämtliche Eiweissstoffe sind amorphe kolloidale Körper und wir kennen bisher nur eine beschränkte Anzahl krystallinischer Proteinkörper.

Der Schwefel im Eiweissmolekül ist in zweierlei Form vorhanden, in loser und fester gebundener Form und ist im allgemeinen leicht abspaltbar.

Die Peptone geben meist bei der Prüfung auf Schwefel negative Resultate.

Betreff des Stickstoffgehaltes, bewies C. Paal[1]), dass im Glutinpepton der Stickstoff in drei Formen gebunden ist, als NH_2 als NH und als tertiärer Stickstoff.

Da sich die übrigen Proteïnpeptone dem Glutinpepton analog verhalten, so dürfte bei sämtlichen Proteïnstoffen der Stickstoff in allen 3 Formen vorhanden sein.

Nachdem nachfolgende Arbeit sich speziell mit den Spaltungsprodukten des Albuminoïds Glutin befasst, dürfte es am Platze sein, auf diesen Körper des näheren einzugehen.

Das Glutin — Leim, Gelatine — ist ein dem Albumin sehr nahe stehender Körper.

Während bei dem Eiweiss auf ein Stickstoffatom 4 Atome Kohlenstoff kommen, ist beim Glutin dies Verhältnis wie 1 zu $3^1/_6$.

Das Glutin ist demnach stickstoffreicher.

1) Ber. chem. Ges. XXIX, 1084.

Vor allem ist der geringe Schwefelgehalt des Glutins bemerkenswert, der im Gegensatz zum Eiweiss nur bis zu 0.3 % beträgt.

Als erster beschäftigte sich Berzelius mit dem Glutin. Er stellte bereits fest, dass durch Einwirkung von Wasser auf Gelatine, andere ebenfalls lösliche Produkte entständen, womit er die hydrolytische Spaltung bereits erkannte.

Des weiteren befassten sich mit Glutin: Hofmeister[1]), Mulder[2]), Schützenberger und Bourgeois[3]) sowie Gaethgens[4]), welche auf verschiedenen Wegen arbeitend:

Ammoniak, Kohlensäure, Glycocoll, Leucin, Oxalsäure, Alanin, Amidobuttersäure, Tyrosin, Asparaginsäure und Amidoverbindungen der Alcylreihe und Glutaminsäure fanden — Zersetzungsprodukte, die auch andere Proteïnstoffe liefern.

Tartarinoff und V. Gerlach[5]) erhielten durch Behandeln mit schwacher Salzsäure die zunächst entstehenden Spaltungsprodukte des Glutins, in Form von Glutinpeptonchlorhydrat mit 48.97—50.03 % C, 6.5—7.33 % H und 17.67—17,69 % N.

Erst C. Paal[6]) gelang es, nachdem er das Chlorhydrat von der Salzsäure befreit hatte, das freie Glutinpepton als Spaltungsprodukt des Glutins herzustellen.

---

1) Zeitschr. für physiol. Chem. II, 299.

2) Zeitschr. für prakt. Chem. XVI, 29.

3) Annal. chim. phys. (5) 16, 289.

4) Zeitschr. für physiol. Chem. v. Hoppe-Seyler I, 299.

5) Sur la pept. de gelatine. Rougets Lab. Museum hist. nat. 97, 713—715 und »Die Peptone in ihrer wissenschaftl. und prakt. Bedeutung«.

6) Ber. chem. Ges. XXV, 1230.

Jetzt stellte sich heraus, dass auch das Glutinpepton nicht einheitlicher Natur war. Denn durch Sättigung einer concentrierten Pepton- resp. Peptonsalzlösung mit Ammonsulfat oder nach Bömer[1]) mit Zinksulfat, wurde ein Teil des Glutinpeptons ausgefällt.

Es zeigte sich der ausgefällte Teil bei den Peptonsalzen bedeutend säureärmer als der gelöste Teil. Es war dies ein analoges Verhalten wie bei dem Eiweiss, welches nach Kühne[2]) aus dem leicht spaltbaren Hemi- und dem schwer spaltbaren Antikomplexe besteht und dem entsprechend ein Hemi- und Antipepton liefert.

Wir haben also demnach das echte Glutinpepton, als Chlorhydrat leicht löslich in absolutem Alkohol und concentrierter Ammon- resp. Zinksulfatlösung, in seinen Salzen säurereich, und das Glutinpropepton oder Glutinose, als Chlorhydrat schwerer löslich in absolutem Alkohol, unlöslich in concentrierter Ammon- resp. Zinksulfatlösung dabei in seinen Salzen säurearm.

Im übrigen verhält sich das Glutinpepton wie das Eiweisspepton; auch aus ihm lassen sich durch Behandlung mit Cyanaten Harnstoffe[3]) herstellen, wodurch auch der Charakter der Glutinpeptone als Amidosäuren nachgewiesen ist.

Das reine Glutinpepton zeigt durch sein Verhalten gegen Alkohol, dass es nicht einheitlich ist.

---

1) Zeitschr. für analyt. Chem. XXXIV, 562.

2) Zeitschr. für Biol. XIX, 159 u. XXII, 423.

3) Ber. chem. Ges. XXIX, 1087, Dissert. Bräunig Erlangen 1898, Fuchs 1902.

Man hatte bereits bisher durch Behandeln mit absolutem Aethylalkohol zwei Fraktionen des Peptons erhalten:

1. ein alkohollösliches Pepton,
2. ein alkoholunlösliches Pepton.

Dazu kam noch, dass das aethylalkoholunlösliche Pepton nicht vollständig unlöslich in absolutem Methylalkohol sich erwies [1]) und dass C. Paal [2]) aus dem sich analog verhaltenden Eialbuminpepton ein methyl- und ein aethylalkohollösliches Pepton isolierte.

In nachfolgender Arbeit galt es zunächst festzustellen, wieviel und welche Fraktionen auf Grund seiner Löslichkeitsverhältnisse isolierbar seien und welche Eigenschaften dieselben eventuell zeigen würden.

Nachdem nun weiterhin, sämtliche Albuminstoffe in ihrer Lösung optisch aktiv sind, welche Eigenschaft sich auch auf die näheren Spaltungsprodukte — die Albuminosen, Peptone und deren Salze — überträgt, so war es sehr interessant zu versuchen, ob sich nicht aus dem spezifischen Drehungsvermögen, die im Laufe dieser Arbeit dargestellten Peptone resp. deren Salze als einheitlich charakterisieren liessen.

---

1) Dissert. Fuchs, Erlangen 1902.

2) Festschrift der Univ. Erlangen 1901 »Zur Kenntnis der Albuminpeptone.

Experimenteller Teil.

I. Darstellung und Versuche mit Glutinpeptonchlorhydrat.

Nach der von C. Paal[1]) angegebenen Methode wurden durch Einwirkung verdünnter Salzsäure auf reinste Gelatine des Handels verschiedene Präparate von Peptonchlorhydrat dargestellt.

Je nach Länge der Einwirkung der Salzsäure war das Produkt reicher oder ärmer an gebundener Salzsäure.

Die Peptonchlorhydrate wurden im luftverdünnten Raume zur Trockne gebracht und waren im allgemeinen den früher dargestellten Substanzen entsprechend.

Sie bildeten amorphe gelbe Lamellen von grosser Hygroscopicität, welch' letztere mit dem Salzsäuregehalt des Präparates zunahm.

Auf ihren Salzsäuregehalt untersucht, gaben die einzelnen Peptonchlorhydrate folgende Resultate:

Präparat I.

0.2959 gr Substanz gaben 0.1105 gr AgCl
= 9.49 % HCl.

0.2430 gr Substanz gaben 0.0910 gr AgCl
= 9.52 % HCl.

1) Ber. chem. Ges. XXV, 1202.

Präparat II,

0.5106 gr Substanz gaben 0,2633 gr AgCl
= 13.11 % HCl.

0.2861 gr Substanz gaben 0.1486 gr AgCl
= 13.21 % HCl.

Präparat III.

0.4988 gr Substanz gaben 0.2953 gr AgCl
= 15.05 % HCl.

Der Aschegehalt der drei Präparate wurde bestimmt, indem die Substanz mit concentrierter Schwefelsäure abgeraucht und der Rückstand (Na_2SO_4) als NaCl berechnet wurde.

Präparat I.

0.2376 gr Substanz gaben 0.0031 gr Na_3SO_4
= 0.537 % Asche (als NaCl).

Präparat II.

0.2134 gr Substanz gaben 0.0023 gr Na_2SO_4
= 0.459 % Asche (als NaCl).

Präparat III.

0.3268 gr Substanz gaben 0.0043 gr Na_2SO_4
= 0.538 % Asche (als NaCl).

Zur Bestimmung des spezifischen Drehungsvermögens wurde von jedem dieser drei Peptonchlorhydrate je eine wässerige, sowie eine äthylalkoholische Lösung dargestellt.

Auf freies Pepton bezogen waren die Resultate folgende:

Präparat I.

0.747 %
1.00233 spez. Gewicht
1.25° Drehung
$\alpha(D)$ = — 83.5° in wässeriger Lösung.

0.9301 %
0.80727 spez. Gewicht
0.84° Drehung
$\alpha(D) = -55.9^0$ in alkoholischer Lösung.

Präparat II.

1.021 %
1.00323 spez. Gewicht
1.66° Drehung
$\alpha(D) = -80.54^0$ in wässeriger Lösung.
0.6343 %
0.810 spez. Gewicht
0.56° Drehung
$\alpha(D) = -54.5^0$ in alkoholischer Lösung.

Präparat III.

0.4105 %
1.00135 spez. Gewicht
0.37° Drehung
$\alpha(D) = -46.006^0$ in wässeriger Lösung.
0.5955 %
0.796 spez. Gewicht
0.34° Drehung
$\alpha(D) = -35.7^0$ in alkoholischer Lösung.

Es geht aus vorstehenden Ergebnissen hervor, dass mit zunehmendem Salzsäuregehalt die optische Activität abnimmt.

Die drei Präparate wurden nunmehr vereinigt und zur Entfernung etwa vorhandener Glutinosen in Wasser gelöst, und darauf wurde die Peptonchlorhydratlösung mit Ammonsulfat bei einer Temperatur von 70° -80° gesättigt.

Es entstand eine deutliche Trübung. Die Menge der vorhandenen Glutinosen war jedoch nach dem

Abfiltrieren zu gering, um dieselben näher untersuchen zu können.

Die concentrierte, Ammonsulfatgesättigte Peptonchlorhydratlösung wurde in das mehrfache Volumen absoluten Alkohol gegossen, das Filtrat wurde eingedampft und durch mehrmaliges Auflösen in absolutem Aethylalkohol, Filtrieren und Eindampfen der Peptonchlorhydratlösung wurde sämtliches Ammonsulfat entfernt und das echte Peptonchlorhydrat isoliert.

Es liefert 30 gr angewandtes unreines Peptonchlorhydrat circa 25 gr Ausbeute an reinem Salz.

An dieser Stelle sei noch erwähnt, dass zur Entfernung der Propeptonsalze die von C. Paal[1]) angegebene Methode angewandt wurde, welches als erster die Uebersättigung mit Ammon- resp. Zinksulfat auch auf Peptonsalzlösungen anwandte behufs Entfernung von Propeptonsalzen.

Das erhaltene Peptonsalz war in der Kälte leicht und klar löslich im absolutem Alkohol und zeigte beim Uebersättigen einer wässerigen Lösung mit Ammonium- oder Zinksulfat nicht die geringste Trübung.

Eine Salzsäure- und Asche-Bestimmung hatte folgendes Ergebnis.

0.3724 gr Substanz gaben 0.1858 gr AgCl
= 12.12 % HCl.

0.3428 gr Substanz gaben 0.0073 Na_2SO_4
= 1.035 % Asche (als NaCl).

Da die wässerige Lösung des Präparates mit Baryumchloridlösung eine Trübung hervorrief, so war

1) Festschr. der Universität Erlangen 1901 »Zur Kenntnis der Albuminpeptone.«

infolge Masseneinwirkung des Ammonsulfats ein Teil des salzsauren Peptonsalzes in schwefelsaures Salz übergegangen.

Eine infolgedessen vorgenommene Schwefelsäurebestimmung ergab, dass 0.4110 gr Substanz 0.02575 gr $BaSO_4$ lieferten.

Das Präparat enthielt also 2.3 % H_2SO_4. Bei der Untersuchung des spezifischen Drehungsvermögens wurden folgende Ergebnisse gefunden: (auf freies Pepton bezogen)

0.9304 %
1.002 spez. Gewicht
1.32° Drehung
$\alpha_{(D)}$ = — 70.78° in wässeriger Lösung.
0.649 %
0.798 spez. Gewicht
0.44° Drehung
$\alpha_{(D)}$ = — 42.47° in alkoholischer Lösung.

Die Resultate der optischen Untersuchung des reinen Peptonchlorhydrats waren demnach denen der zuvor untersuchten unreinen Präparate entsprechend.

II. Darstellung und Verhalten des freien Glutinpeptons.

Nach der Vorschrift von C. Paal[1]) wurde das Peptonchlorhydrat mittels Silbersulfat in Peptonsulfat übergeführt.

Das gebildete Chlorsilber wurde abfiltriert und in Lösung gegangenes überschüssiges Silbersulfat mit Schwefelwasserstoff gefällt.

Aus der Peptonsulfatlösung wurde die Schwefelsäure durch Barytwasser als $BaSO_4$ entfernt.

1) Ber. chem. Ges. XXVII. 1230.

Die wässerige Peptonlösung wurde nunmehr zu dünner Sirupconsistenz eingedampft und tropfenweise unter Umschütteln zu dem etwa 15 fachen Volumen absolutem Aethylalkohol gegeben.

Nach dem Absetzen wurde das ausgefällte Pepton abfiltriert, mit absolutem Alkohol nachgewaschen und im Vacuum zur Trockne gebracht.

Das alkoholische Filtrat wurde eingedampft und von neuem mit absolutem Aethylalkohol behandelt.

Jetzt erwies sich ein Teil des Peptons als nicht mehr löslich in Aethylalkohol, er löste sich jedoch grösstenteils leicht in absolutem Methylalkohol.

Der verbleibende Rückstand bildete eine weisse krystallinische Masse.

Dieselbe wurde nach mehrmaligem Umkrystallisieren durch Schmelzpunktbestimmung wie durch Kupferverbindung als Amidoessigsäure erkannt.

Bei längerem Stehen von alkoholischen Glutinpeptonlösungen fällt übrigens fast immer mehr oder weniger Glycocoll aus; besonders tritt dies bei abwechselndem Erhitzen und Abkühlen der Lösungen ein.

Nachdem die beiden alkohollöslichen Peptone ebenfalls im Vacuum zur Trockne gebracht waren, lagen demnach drei verschiedene Peptone vor:

1. ein alkoholunlösliches Pepton
Pepton A.

2. ein methylalkohollösliches Pepton
Pepton B.

3. ein äthylalkohollösliches Pepton
Pepton C.

Die Analysen dieser Peptone ergaben folgende Resultate:

1. Peton A.

0.1253 gr Substanz gaben 0.00105 gr $CaSO_4$ 0.2160 gr Substanz (gleich 0.2153 gr aschefreier Substanz) gaben 0.3669 gr CO_2 und 0.1318 gr H_2O.

0.1538 gr Substanz (gleich 0.1533 aschefreier Substanz) gaben bei 16° und 746 mm Druck 22.25 ccm Stickstoff.

C.	H.	N.	Asche (als CaO)
46.9 %	6.85 %	16.7 %	0.35 %.

2. Pepton B.

0.3681 gr Substanz gaben 0.0012 gr $CaSO_4$ 0.2039 gr Substanz (gleich 0.2036 gr aschefreier Substanz) gaben 0.3701 gr CO_2 und 0.1217 gr H_2O.

0.1153 gr Substanz (gleich 0.1152 gr aschefreier Substanz) gaben bei 15° und 752 mm Druck 15.45 ccm Stickstoff.

C.	H.	N.	Asche (als CaO)
49.59 %	6.69 %	15.6 %	0.14 %.

3. Pepton C.

0.4362 gr Substanz gaben 0.0013 gr $CaSO_4$ 0.1384 gr Substanz (gleich 0.1382 gr aschefreier Substanz) gaben 0.2667 gr CO_2 und 0.0862 H_2O.

0.1135 gr Substanz (gleich 0.1133 gr aschefreier Substanz) gaben bei 15° und 752 mm Druck 14,65 ccm Stickstoff.

C.	H.	N.	Asche (als CaO)
52,64 %	6.98 %	15.1 %	0.14 %.

Die drei Peptone unterschieden sich auch im Aeusseren nicht unwesentlich von einander.

Während Pepton A braungelb war und sich weniger hygroscopisch zeigte, war Pepton C hellgelb und ebenso wie das fast weisse Pepton B sehr hygroscopisch.

Das spezifische Drehungsvermögen der drei Präparate in wässeriger Lösung untersucht, ergab folgende Zahlen:

1. Pepton A.

0.7208 %
1.0015 spez. Gewicht
0.83° Drehung
$\alpha_{(D)} = -57.4^0$.

2. Pepton B.

0.2854 %
1.0006 spez. Gewicht
0.42 Drehung
$\alpha_{(D)} = -73{,}5^0$.

3. Pepton C.

0.6114 %
1.001 spez. Gewicht
1.06 Drehung
$\alpha_{(D)} = -86.9^0$.

Nunmehr wurde Pepton A in Wasser zu dünner Sirupconsistenz aufgelöst und nur so wenig absoluter Aethylalkohol zugegeben, dass nicht sämtliches Pepton zur Ausscheidung gebracht wurde.

Das ausgeschiedene, gleich wie das noch in Lösung befindliche Pepton wurde im Vacuum zur Trockne gebracht.

Das ausgeschiedene Pepton war etwas stärker braun gefärbt als das ursprüngliche Peton A, jedoch wie dieses auch wenig hygroscopisch, während das in Lösung gebliebene Pepton gelbweiss und dabei stark hygroscopisch war.

Der Einfachheit halber wurde das ausgeschiedene Pepton Aα, das gelöste Aβ genannt.

Aα sowohl wie Aβ waren getrocknet in absolutem Aethylalkohol fast unlöslich, während absoluter Methylalkohol Aβ leicht löste.

Aα und Aβ in wässeriger Lösune polarisiert, ergaben folgende Resultate:

1. Aα.

0.5504 %
1.001 spez. Gewicht
0.59° Drehung
$\alpha_{(D)} = -53.5^{0}$.

2. Aβ.

0.526 %
1.001 spez. Gewicht
0.74 Drehung
$\alpha_{(D)} = -72.2^{0}$.

Pepton Aα wiederum wie vorher mit absolutem Aethylalkohol gefällt, lieferte wieder zwei Fraktionen, bei welchen, die dem Pepton A entsprechende Fraktion die spezifischen Eigenschaften des Peptons A noch charakteristischer zeigte wie vorher.

Es war beinahe vollständig unlöslich in Aethyl- wie Methylalkohol, von brauner Farbe und kaum hygroscopisch.

Die lösliche Fraktion war jedoch nicht mehr vollständig löslich in absolutem Methylalkohol, was auf bereits eingetretene Mischung mit der unlöslichen Fraktion hinwies und durch das Ergebnis der Polarisation bis zu gewissem Grade bestätigt wurde.

Es ergab in wässeriger Lösung polarisiert:

Pepton Aα unlösliche Fraktion:

0.632 %
1.0015 spez. Gewicht
0.61° Drehung
$\alpha_{(D)} = -48.7°$.

Pepton Aα lösliche Fraktion:

0.3349 %
1.0006 spez. Gewicht
0.45° Drehung
$\alpha_{(D)} = -67.2°$.

Weitere Fraktionen des gefällten Peptons mit absolutem Aethylalkohol liessen fast sämtliches Pepton ausfallen und nur Spuren blieben noch in Lösung.

Es war infolge dessen nur noch möglich das gefällte Pepton optisch zu untersuchen.

Hierbei wurden folgende Zahlen gefunden:

0.4222 %
0.0016 spez. Gewicht
0.39° Drehung
$\alpha_{(D)} = -46.2°$.
0.5496 %
1.0017 spez. Gewicht
0.5° Drehung
$\alpha_{(D)} = -45.4.°$
0.1288 %
1.00088 spez. Gewicht
0.11° Drehung
$\alpha_{(D)} = -42.7°$.
0.1145 %
1.00073 spez. Gewicht
0.088° Drehung
$\alpha_{(D)} = -38.6°$.

Da bei der grossen Verdünnung der letzten Lösungen und der starken Braunfärbung derselben die Ablesungen am Polarisationsapparat sich sehr schwierig gestalteten, so ist anzunehmen, dass bei den geringen Unterschieden in dem spezifischen Drehungsvermögen zum Schluss fast vollständig reines Pepton A vorlag.

Das als Aβ erhaltene Präparat hatte sowohl was Löslichkeit, Farbe, Hygroscopicität anging, grosse Aehnlichkeit mit dem bereits erwähnten Pepton B.

Seine Identität mit Pepton B. wurde sowohl durch das spezifische Drehungsvermögen, wie durch die Analyse nachgewiesen.

Es hatte Pepton B ergeben:

$\alpha_{(D)} = -73.5^0$.

Pepton Aβ ergab:

0.5632 %
1.0015 spez. Gewicht
0.81° Drehung

$\alpha_{(D)} = -72{,}2^0$.

Die Resultate der Analysen waren folgende:

Wie bereits angegeben für Pepton B

C.	H.	N.
49.59 %	6.69 %	15.6 %

für Pepton Aβ.

0.1105 gr Substanz ergaben 0.2008 gr CO_2 und 0.0693 gr H_2O.

0.1802 gr Substanz gaben bei 14° und 734 mm Druck 24.2 ccm Stickstoff.

C.	H.	N.
49.62 %	7.03 %	15.3 %.

In ähnlicher Weise wie vorher gestaltete sich die

Fraktionierung des methylalkohollöslichen Peptons mit absolutem Aethylalkohol.

Es wurde Pepton B in wenig absolutem Methylalkohol gelöst und mit Aethylalkohol teilweise gefällt.

Zwei Fraktionen wurden erhalten, die sich in ihrem äusseren Verhalten wenig unterschieden, und deren optische Untersuchung folgende Ergebnisse hatte:

1. Das ausgefällte Pepton:

0.6568 %
1.002 spez. Gewicht
0.79° Drehung
$\alpha_{(D)} = -59.9^{0}$.

2. Das gelöste Pepton:

0.6016 %
1.002 spez. Gewicht
0.91° Drehung
$\alpha_{(D)} = -72.9^{0}$.

Eine zweite Fraktion des ausgefällten Peptons hatte folgendes Resultat:

1. Das ausgefüllte Pepton:

0.5520 %
1.0015 spez. Gewicht
0.61° Drehung
$\alpha_{(D)} = -55.2^{0}$.

2. Das gelöste Pepton.

0.6204 %
1.002 spez. Gewicht
0.86° Drehung
$\alpha_{(D)} = -70.7^{0}$.

Die ausgefällten Fraktionen waren leicht löslich in absolutem Methylalkohol.

Es war demnach das angewandte Pepton B ursprünglich mit Pepton C verunreinigt, und es dürften die für das ausgefällte Pepton gefundenen Zahlen die für das Pepton B. charakteristischen sein.

Nachdem bisher für Pepton C

$$\alpha_{(D)} = -86.9^0$$

und in einer später dargestellten Portion

$$\alpha_{(D)} = -82.8^0$$

bestimmt worden war, dürften die für das gelöste Pepton gefundenen Resultate nicht mit Pepton C in Bezug gebracht werden.

Es war anzunehmen, dass nicht sämtliches Pepton B ausgefällt wurde und damit eine Mischung von B und C in Lösung blieb.

Ausserdem spricht der Umstand mit, dass in alkoholischer Lösung sich die Trennungen weit aus schwieriger gestalteten, da man, wie nachfolgender Versuch zeigt, mit Esterifizierung durch den Alkohol zu rechnen hat.

Es wurde nämlich Pepton C in wässeriger Lösung einige Stunden auf dem Wasserbade erhitzt, um den eventuell vorliegenden Ester zur Verseifung zu bringen, darauf eingedampft und im Vacuum getrocknet.

Während die frühere Analyse folgendes Ergebnis hatte:

C.	H.
52.63 %	6.69 %

gaben nach Einwirkung von Wasser auf das Pepton C

0.1572 gr Substanz 0.2871 CO_2 und 0.0861 H_2O

C.	H.
50,2 %	6.14 %.

Die Verminderung des Kohlenstoff- wie Wasserstoffgehaltes beweisen, dass Pepton C mit Aethylalkohol leicht Ester bildet.

Die Löslichkeit des verseiften Peptons in absolutem Aethylalkohol war dieselbe wie vorher.

Die optische Activität hatte sich jedoch geändert, dieselbe war von vorher

$\alpha_{(D)} = -82.8^0$

auf nunmehr

1.4024 %
1.005 spez. Gewicht
2.58^0 Drehung

$\alpha_{(D)} = -70.2^0$

hinab gegangen.

Pepton B in gleicher Weise mit Wasser behandelt, ergab jedoch ein rein negatives Resultat.

Früher hatte die Analyse ergeben

C.	H.
49.59 %	6.69 %

jetzt gaben 0.2032 gr angewandte Substanz 0.3650 gr CO_2 und 0.1256 gr H_2O.

C.	H.
49.37 %	6.93 %.

Pepton B dürfte demnach nicht so leicht zur Esterbildung hinneigen wie Pepton C.

Bei näherer Betrachtung ersieht man, dass das spezifische Drehungsvermögen in enger Beziehung zu der Löslichkeit der Peptone steht, was an Hand nachstehender Tabelle leicht zu erkennen ist.

Pepton A Nur wasserlöslich	Pepton B. Wasser- und Methylalkohol-löslich	Pepton C Wasser-, Methyl- und Aethyl-alhohollöslich
$\alpha_{(D)} = -$ **38.6°** } Vollständig $\alpha_{(D)} = -$ **42.7°** } unlöslich	$\alpha_{(D)} = -$ **55.2°** } Unlöslich $\alpha_{(D)} = -$ **59.9°** }	$\alpha_{(D)} = -$ **82.8°** } Vollständig $\alpha_{(D)} = -$ **86.9°** } löslich in absolutem Aethylalkohol
$\alpha_{(D)} = -$ 45.4° } Spuren $\alpha_{(D)} = -$ 48.7° } löslich	$\alpha_{(D)} = -$ 67.2° } Spuren bis $\alpha_{(D)} = -$ 72.2° } teilweise $\alpha_{(D)} = -$ 73.5° } löslich in absolutem Aethylalkohol	
$\alpha_{(D)} = -$ 53.5° } Teilweise $\alpha_{(D)} = -$ 57.4° } löslich in absolutem Methyl- wie Aethylalkohol		

Nach Vereinigung sämtlicher gleichartiger Fraktionen zu drei, den Peptonen A, B und C entsprechenden Gruppen, wurde jede derselben wiederum polarisiert.

Es wurde gefunden für

1. Pepton A.

0.3420 %
1.002 spez. Gewicht
0.31° Drehung
$\alpha_{(D)} = -46.7°$.

2. Pepton B.

0.2813 %
1.0015 spez. Gewicht
0.34° Drehung
$\alpha_{(D)} = -60.8°$.

3. Pepton C.

1.1544 %
1.005 spez. Gewicht
1.66° Drehung
$\alpha_{(D)} = -79.2°$.

Diese Zahlen dürften sich wohl den mittleren Werten der optischen Activität der drei Peptone nähern.

Eine nochmals vorgenommene Aschebestimmung ergab folgende Resultate.

1. Pepton A.

0.4301 gr angewandte Substanz gab 0.0043 $CaSO_4$.

2. Pepton B.

0.3501 gr Substanz gab 0.0026 $CaSO_4$.

3. Pepton C.

0.2156 gr Substanz gab 0.0012 $CaSO_4$.

1. Pepton A = 0.42 % Asche (als CaO).
2. Pepton B = 0.32 % Asche (als CaO).
3. Pepton C = 0.23 % Asche (als CaO).

III. Reaktionen der Peptone.

Die vorgenannten Peptone gaben mit den verschiedenen Reagentien folgende Ergebnisse:

Reagenz	Pepton A.	Pepton B.	Pepton C.
Jodquecksilberkalium	kaum merkl. Trübung	negativ	Schwache Trübung
Biuretreaction	positiv	positiv	positiv
$HgCl_2$	Schwache Trübung	Schwache Trübung	Schwache Trübung
Phosphorwolframsäure	Starke, käsige Fällung	wie A	wie A
Ammonsulfat	geringe Trübung	Trübung	Trübung
Zinksulfat	negativ	geringe Trübung	kaum merkl. Trübung
Schwefeltrockenprobe	positiv	positiv	positiv
Millon	negativ	negativ	positiv
Molisch	negativ	negativ	negativ
Aceton	Spuren lösl.	etwas löslich	kaum löslich
Essigsäure	löslich	löslich	löslich

Dass die Schwefeltrockenprobe ein positives Resultat ergab, ist insofern wichtig, als in früheren Arbeiten[1]) mit Glutinpepton, dasselbe für schwefelfrei erklärt worden war.

Vollständig frei von Glutinosen waren die Peptone nicht, was wohl durch Wiederzusammentreten von Molekularcomplexen, nachdem in den vorstehen-

1) Fuchs. Dissert. Erlangen 1902.

den Arbeiten die verschiedensten Agentien auf dieselben einwirkten, zu erklären ist.

Nachdem jedoch der Gehalt an Glutinosen ein äusserst geringer war, und Phosphorwolframsäure eine fast vollständige Fällung hervorrief, so lag in den Präparaten immer noch ein verhältnismässig reines Glutinpepton vor.

IV. Rückbildung von Peptonchlorhydraten aus den drei Peptonen.

2 gr Pepton A wurden mit frisch bereiteter alkoholischer Salzsäure digeriert bis vollständige Lösung eingetreten war.

Darauf wurde das Präparat eingedampft und im Vacuum zur Trockne gebracht.

Es wurde ein dem anfangs erwähnten Peptonchlorhydrat entsprechendes Salz erhalten, dessen Salzsäurebestimmung folgendes ergab:

0.2015 gr Substanz gaben 0.1220 gr AgCl
= 15.4 % HCl.

Die Ueberführung von Pepton B und C gestaltete sich insofern leichter, als es nur nötig war, diese Peptone in wenig Methyl- resp. Aethylalkohol zu lösen und eine entsprechende Menge alkoholischer Salzsäure zuzugeben.

Die beiden Präparate wurden ebenfalls im luftverdünnten Raume getrocknet.

Ihre Salzsäurebestimmungen ergaben folgende Resultate:

Peptonchlorhydrat B.

0.2153 gr Substanz gaben 0.1126 gr AgCl
= 13.3 % HCl.

Peptonchlorhydrat C.

0.3502 gr Substanz gaben 0.1818 gr AgCl
= 13.2 % HCl.

Die Untersuchung der optischen Activität der drei Peptonsalze lieferte folgende Ergebnisse:

1. Peptonchlorhydrat A.

1.2484 %
1.0036 spez. Gewicht
1.03° Drehung
$\alpha_{(D)}$ = — 41.1°
= — 48.8° als freien Pepton berechnet.

2. Pepton B.

1.9224 %
1.006 spez. Gewicht
1.9° Drehung
$\alpha_{(D)}$ = — 49.3°
= — 55.7° als freies Pepton berechnet.

3. Pepton C.

1.0212 %
1.0026 spez. Gewicht
1.33° Drehung
$\alpha_{(D)}$ = — 64.9°
= — 75.5° als freies Pepton berechnet.

Das optische Verhalten dieser Chlorhydrate war demnach genau dasselbe, wie bei den anfangs hergestellten Peptonsalzen.

Mit zunehmendem Säuregehalt nahm auch hier die optische Activität ab.

Mit Ammonium- oder Zinksulfat übersättigt, verhielten sich die Lösungen der Peptonchlorhydrate folgendermassen:

Reagenz	Peptonchlorhydrat A.	Peptonchlorhydrat B.	Peptonchlorhydrat C.
Ammonsulfat	geringe Trübung	negativ	Trübung
Zinksulfat	kaum sichtb. Trübung	negativ	geringe Trübung

Es liessen sich also auch hier Spuren von Gelatosen nachweisen.

V. Molekulargewichtsbestimmungen der drei Peptone und ihrer Chlorhydrate.

Von hohem Interesse mussten nunmehr die Molekulargewichtsbestimmungen der drei Peptone, wie auch der aus denselben zurückgebildeten Salze sein.

Dieselben wurden in wässeriger Lösung nach der Beckmann'schen Gefrierpunkt-Erniedrigungs-Methode ausgeführt.

Hierbei war zu beachten, dass die Peptonsalze, wie bereits früher C. Paal[1]) beobachtete, bei der Gefriermethode in Wasser Zahlen gaben, die nur dem halben Molekulargewichte entsprechen dürften.

(Siehe umstehende Tabelle.)

Es war sehr interessant zu beobachten, welch niedrige Zahlen die Molekulargewichte der drei Peptone lieferten, die jedoch mit Ausnahme von Pepton C-Chlorhydrat, in entsprechendem Verhältnis zu den Zahlen ihrer Chlorhydrate stehen.

1) Ber. chem. Ges. XXV, 1232. u. XXXI. 958.

Molekulargewichtsbestimmungen.

Substanz	Gewicht des Lösungsmittels (Wasser)	Gewicht der angewandten Substanz	Depression	gefund. Molekulargewicht resp. $^1/_2$ Molekulargew.
Pepton A	11.2 gr	0.1203 gr	0.085^0	233.8
	11.2 gr	0.1203 gr + 0,1832 gr = 0,3035 gr	0.226^0	221.6
Pepton B	13.0 gr	0.0637 gr	0.06^0	151.2
	13.0 gr	0.0637 gr + 0.0744 gr = 0.1381 gr	0.120^0	163.8
Pepton C	12.8 gr	0.2721 gr	0.220^0	178.7
	12.8 gr	0.2721 gr + 0.1302 gr = 0.4023 gr	0.326^0	178.4
Peptonchlorhyd. A	16.9 gr	0.3352 gr	0.290^0	127.3
	16.9 gr	0.3352 gr + 0.0404 gr = 0.3756 gr	0.325^0	127.3
Peptonchlorhyd. B	17.3 gr	0.0981 gr	0.105^0	99.9
	17.3 gr	0.0981 gr + 0.1256 gr = 0.2237 gr	0.220^0	108.7
Peptonchlorhyd. C	15.6 gr	0.1814 gr	0.159^0	135.4
	16.4 gr	0.1228 gr	0.105^0	132.0

VI. Einwirkung von Phenylisocyanat auf die drei Glutinpeptone.

Anschliessend an die — wie in der Einleitung bereits erwähnt — von C. Paal und seinen Schülern gemachten erfolgreichen Versuche, durch Behandlung mit Phenylisocyanat aus den Peptonen, Harnstoffe herzustellen, wurden 2 gr Pepton A in wenig Wasser gelöst, mit concentrierter Natronlauge bis zur alkalischen Reaktion versetzt und abwechselnd Phenylisocyanat und Natronlauge unter fortwährendem Umschütteln zugesetzt, bis der stehende Phenylisocyanatgeruch nicht mehr vollständig verschwand.

Zu gleicher Zeit mit diesem Augenblick, trat eine gelblich weisse Fällung von Diphenylharnstoff ein, welche durch die Einwirkung des Alkalis hervorgerufen wurde.

$$2C_6H_5NCO + H_2O = \begin{matrix} \diagup NH \cdot C_6H_5 \\ C{=}O \\ \diagdown NH \cdot C_6H_5 \end{matrix} + CO_2$$

Nach gehörigem Absetzenlassen wurde der Diphenylharnstoff abfiltriert.

Das Filtrat wurde erst nach längerem Behandeln mit Talcum vollständig klar erhalten, worauf es mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert wurde, wodurch der Peptonharnstoff in schwammiger Form zur Ausscheidung gebracht wurde.

Derselbe wurde abfiltriert, ausgewaschen, in absolutem Alkohol gelöst, eingedampft und im Vacuum zur Trockne gebracht.

Das Filtrat des ausgeschiedenen Harnstoffs wurde wiederum wie vorher in gleicher Weise mit Natron-

lauge und Phenylisocyanat behandelt, wodurch eine zweite, jedoch unbedeutende Menge Peptonharnstoff gewonnen wurde.

Analog wurden auch aus Pepton B und C Peptonharnstoffe dargestellt.

Es gaben 3 gr angewandtes Pepton A 1.9 gr Peptonharnstoff A.

desgl. 2.5 gr Pepton B 1.3 gr Peptonharnstoff B.

desgl. 5 gr Pepton C 2,3 gr Peptonharnstoff C.

In ihrem Aeusseren sowohl, als auch in ihrem Verhalten gegen Lösungsmittel, zeigten die drei Peptonharnstoffe keinerlei wesentliche Unterschiede.

Dieselben bestanden aus gelbbraunen Lamellen, unlöslich in Wasser, dagegen sowohl in heissem absolutem Aethyl- wie Methylalkohol vollständig löslich.

Der eventuell bleibende Rückstand bei der Behandlung mit absolutem Alkohol, stellte an sich keinen alkoholunlöslichen Peptonharnstoff dar, wie von anderer Seite behauptet wurde[1], sondern erwies sich als nur durch eingeschlossenen gewöhnlichen Peptonharnstoff gelbbraun gefärbtes Natriumsulfat.

Die Analysen der durch Lösen in absolutem Alkohol gereinigten Peptonharnstoffe ergaben folgende Resultate;

Peptonharnstoff A.

0.2350 gr Substanz gaben 0.0004 gr Na_2SO_4.

0.1578 gr Substanz (gleich 0.1575 gr aschefreier Substanz) gaben 0.3170 gr CO_2 und 0.0915 gr H_2O.

0.1203 gr Substanz (gleich 0,1201 gr aschefreier Substanz) gab bei 14° und 732 mm Druck 16.2 ccm Stickstoff.

1) Dissert. Fuchs Erlangen 1902.

Peptonharnstoff A.

C.	H.	N.	Asche (als Na_2SO_4)
54.9 %	6.5 %	15,32 %	0.18 %

Peptonharnstoff B.

0.2145 gr Substanz gaben 0.0004 Na_2SO_4.

0.1873 gr Substanz (gleich 0.1869 gr aschefreier Substanz) gaben 0.3755 gr CO_2 und 0.1072 gr H_2O.

0.2101 gr Substanz (gleich 0.2097 gr aschefreier Substanz) gaben bei 15° und 748 mm Druck 27.2 ccm Stickstoff.

Peptonharnstoff B.

C.	H.	N.	Asche (als Na_2SO_4)
54.8 %	6.42 %	15.01 %	0.21 %.

Peptonharnstoff C.

0.4375 gr Substanz gaben 0.0011 Na_2SO_4.

0.1153 gr Substanz (gleich 0.1150 gr aschefreier Substanz) gaben 0.2354 gr CO_2 und 0.0672 gr H_2O.

0.1431 gr Substanz (gleich 0.1428 gr aschefreier Substanz) gaben bei 15° und 746 mm Druck 18.2 ccm Stickstoff.

Peptonharnstoff C.

C.	H.	N.	Asche (als Na_2SO_4)
55.7 %	6.53 %	14.7 %	0.25 %.

Die Untersuchung der optischen Activität hatte folgende Ergebnisse:

Peptonharnstoff A.

1.1436 %
0.802 spez. Gewicht
0.4° Drehung
$\alpha_{(D)} = - 21.8°$.

Peptonharnstoff B.

0.5664 %
0.7981 spez. Gewicht
0.25 % Drehung
$\alpha_{(D)} = -27.6^0$.

Peptonharnstoff C.

0.2340 %
0.7952 spez. Gewicht
0.15° Drehung
$\alpha_{(D)} = -40.3^0$.

Die Polarisationen waren in absoluter methylalkoholischer Lösung vorgenommen worden und die Ergebnisse standen im entsprechenden Verhältnis zu dem spezifischen Drehungsvermögen der drei freien Peptone.

VII. Versuche zur Darstellung von Salzen der Peptonharnstoffe.

Nachdem die Peptonharnstoffe im Allgemeinen leicht löslich in Alkalien waren, wurde der Versuch gemacht, durch Einwirkung von Barytwasser ein Baryumsalz darzustellen, da die eventuelle Entfernung von überschüssigem Baryt ja leicht durch Kohlensäure zu bewerkstelligen war.

Aber selbst bei längerer Digestion, gleichwie bei dem Erwärmen gingen nur ganz geringe Mengen Peptonharnstoff in Lösung, aus welcher eine leimartige, durchsichtige Masse resultierte, die auf Baryum geprüft wohl positive Ergebnisse hatte, aber zu gering zur weiteren Untersuchung war.

Es wurde nun je eine Lösung der Peptonharnstoffe in Methylalkohol mit frisch gefälltem Kupferhydroxyd behandelt, welches je nach Dauer der Ein-

wirkung die Lösung mehr oder minder intensiv grün färbte.

Die Lösung wurde abfiltriert, eingedampft und das zurückbleibende Salz im Vacuum zur Trockne gebracht.

Es wurde eine schön grün gefärbte Substanz in Lamellenform erhalten, welche sich in heissem Wasser löste, um sich beim Erkalten grösstenteils wieder auszuscheiden.

In absolutem Aethyl- wie Methylalkohol war das Salz leicht löslich.

Eine Kupferbestimmung des Salzes ergab jedoch einen verhältnissmässig geringen Kupfer-Gehalt, was wohl auf die Kürze der Dauer der Einwirkung des Kupferhydroxyds auf die Peptonharnstofflösungen zurückzuführen ist.

Es gaben 0.3102 gr Kupfersalz des Peptonharnstoffs B 0.0132 CuO = 3.891 % Cu.

desgl. 0.2151 gr Kupfersalz des Peptonharnstoffs C 0.0041 gr CuO = 1.55 % Cu.

Nunmehr wurde der Versuch gemacht, durch langsames Abdunstenlassen einer Peptonharnstoffkupferlösung dieses zur Krystallisation zu bringen.

Aber dies, gleichwie ein Versuch durch Dialyse einer alkoholischen Lösung gegen Wasser dasselbe zu erreichen, schlug vollständig fehl.

Zur optischen Untersuchung wurde eine geringe Menge Peptonharnstoff C in eine Natriumhydroxydlösung, von dem äquivalenten Gehalte, dass die Lösung ein etwa 10 prozentiges Natriumsalz des Peptonharnstoffs enthielt, gelöst.

Das Ergebniss war folgendes:

0.6928 %
1.00146 spez. Gewicht
0.59° Drehung
$\alpha_{(D)}$ = — 42.5° (als freier Peptonharnstoff berechnet).

Die Differenz gegen den in methylalkoholischer Lösung polarisierten freien Peptonharnstoff ist demnach nicht bedeutend.

Die vorgenannten Kupfersalze der Peptonharnstoffe B und C lieferten folgende Resultate bei der Untersuchung ihrer optischen Activität.

Kupfersalz des Peptonharnstoffs B.

0.2344 %
0.7991 spez. Gewicht
0.09° Drehung
$\alpha_{(D)}$ = — 24.0°
= — 25.0° als freier Peptonharnstoff berechnet.

Kupfersalz des Peptonharnstoffs C.

0.2160 %
0.7976 spez. Gewicht
0.12° Drehung
$\alpha_{(D)}$ = — 34.8°
= — 34.4° als freier Peptonharnstoff berechnet.

Es war also in diesen Kupfersalzen eine geringe Abnahme der optischen Activität gegenüber den freien Peptonharnstoffen zu verzeichnen.

VIII. Reaktionen der Peptonharnstoffe.

Die zuvorerwähnten drei Peptonharnstoffe gaben mit den verschiedenen Reagentien folgende Reaktionen:

Reagentien	Peptonharnstoff A.	Peptonharnstoff B.	Peptonharnstoff C
Schwefeltrockenprobe	positiv	positiv	positiv
Biuretreaktion	negativ	negativ	negativ
Millon	negativ	negativ	gering
Molisch	negativ	negativ	negativ
Phosphorwolframsäure	negativ	negativ	negativ
Aceton	teilweise löslich	fast vollständig löslich	fast vollständig löslich
Eisessig	löslich	löslich	löslich
Methylalkohol	löslich	löslich	löslich

IX. Einwirkung von Benzoylchlorid auf Peptonharnstoff.

Nach der bekannten Schotten-Baumann'schen Reaktion wirken Säurechloride auf Alkohole und Amine derart, dass das Chloratom mit einem Wasserstoffatom der OH-, NH_2- oder NH-Gruppe in Form von HCl austritt, während die Reste sich zu einem Ester resp. Säureamid vereinigen.

Nachdem es nun gelungen war, aus den drei Glutinpeptonen A, B und C Harnstoffderivate zu bilden, war nunmehr festzustellen, ob nicht in diesen noch basische mit Benzoylchlorid reagierende Gruppen vorhanden seien.

In folgedessen wurde 1 gr Peptonharnstoff in Natronlauge gelöst und entsprechend mit Benzoylchlorid behandelt.

Es schied sich hierbei eine geringe Menge schmieriger Substanz nebst einem grösseren Quantum Natriumbenzoat ab.

Die filtrierte Lösung wurde darauf angesäuert.

Ausser einer grösseren Menge Benzoesäure war jedoch keine Abscheidung zu beobachten.

Die zuvor ausgeschiedene, gelbbraune, schmierige Substanz wurde gesammelt, ausgewaschen und im Vacuum getrocknet.

Die Ausbeute war eine verhältnismässig sehr geringe.

Die Substanz unterschied sich wenig von den angewandten Peptonharnstoffe, war wie dieser in Alkohol löslich und ergab ebensowenig wie der Peptonharnstoff die Biuretreaktion.

Eine alkoholische Lösung des Präparates wurde mit Natriumäthylat verseift und mit Salzsäure angesäuert, worauf der Alkohol abgedampft wurde.

Aus dem verbleibenden Rückstande wurde mit Aether etwa vorhandene Benzoesäure ausgeschüttelt.

Nach Abdunsten des Aethers wurde tatsächlich in dem verbleibendem Rückstande an der Krystallbildung und durch die Schmelzpunktbestimmung die Anwesenheit von Benzoesäure erkannt.

Es geht hieraus hervor, dass das Benzoylchlorid wenn auch nur mit einem geringen Teile, doch mit dem Peptonharnstoffe in Reaktion getreten war.

X. 2. Darstellung und Fraktionierung des reinen Glutinpeptons.

Gestützt auf die Erfahrungen, welche bei den verschiedenen Fraktionierungen der reinen Glutinpeptone gewonnen worden waren, wurde zu einer nochmaligen Darstellung derselben geschritten.

Die Darstellungsweise war bis zur Trennung der drei Peptone eine der früher angeführten analoge.

Während aber früher die zur Sirupkonsistenz eingedampfte Peptonlösung in absoluten Aethylalkohol eingetröpfelt worden war, wurde diesmal absoluter Methylalkohol angewandt.

Es schied sich, wie zu erwarten war, ein dem Pepton A entsprechendes Produkt aus.

Die methylalkoholische Lösung wurde darauf eingedampft, der Rückstand im Vacuum getrocknet und wieder in absolutem Methylalkohol gelöst.

Es blieb jetzt eine nicht unbedeutende Menge alkoholunlösliches Pepton zurück, welches mit dem zuvor ausgefällten Pepton vereinigt und im Vacuum zur Trockne gebracht wurde.

Die methylalkoholische Lösung wurde jetzt wieder zur Sirupkonsistenz gebracht und im absoluten Aethylalkohol unter Umschütteln eingeträufelt.

Es fiel ein dem Pepton B entsprechendes Präparat aus.

Die Lösung wurde wie zuvor eingedampft und das zurückbleibende Pepton im Vacuum getrocknet und mit absolutem Aethylalkohol behandelt.

Auch diesmal löste sich das Pepton nur teilweise in absolutem Aethylalkohol.

Der Rückstand wurde mit dem zuvor ausgefällten Pepton vereinigt und im Vacuum getrocknet.

Endlich wurde gleichfalls die äthylalkoholische Lösung eingedampft und ebenfalls in luftverdünnten Raume zur Trockne gebracht.

Aus diesen Fraktionen wurde drei, den früher dargestellten Peptonen vollständig gleiche Produkte erhalten, welche deren Eigenschaften betr. Löslichkeit vielleicht noch markanter zeigten.

Es muss noch erwähnt werden, dass bei diesem Trennungsverfahren eine nicht zu geringe Menge absoluten Alkohols, in welchem die Peptonlösungen eingetröpfelt werden, verwendet werden darf, sondern mindestens das 30 fache Volumen der Peptonlösungen.

Dass diese Trennungsmethode der drei Peptone wohl am besten ihr Ziel erreichen dürfte, bestätigen die Ergebnisse der optischen Untersuchung.

Es ergaben Pepton A.

2.202 %
1.006 spez. Gewicht
1.65° Drehung
$\alpha_{(D)} = -37.2^0$.

Pepton B.

1.8984 %
1.004 spez. Gewicht
2.2° Drehung
$\alpha_{(D)} = -57.7^0$.

Pepton C.

2.20 %
1.005 spez. Gewicht
3.8° Drehung
$\alpha_{(D)} = -85.7^0$.

Diese Zahlen stehen, wenn sie auch mit den bei den früheren Fraktionen zu Schluss gefundenen Ergebnisse nicht identisch sind, denselben doch sehr nahe.

Nach Uebersättigung von wässerigen Lösungen der drei Peptone mit Ammonsulfat, war allerdings, wie zu erwarten war, noch eine gewisse Abscheidung von Gelatosen bemerkbar.

XI. Rückbildung von Peptonchlorhydraten an den neu dargestellten Peptonen.

Analog wie bereits früher erwähnt, wurden mittelst alkoholischer Salzsäure die neu dargestellten Peptone in ihre Chlorhydrate übergeführt.

In ihrem Aeusseren unterschieden sie sich nicht von den vorher dargestellten Präparaten.

Die Salzsäure-Bestimmungen ergaben folgende Resultate:

1. Peptonchlorhydrat A.

0,2198 gr Substanz gaben 0,1298 gr AgCl
= 15.02 % HCl.

2. Peptonchlorhydrat B.

0,2784 gr Substanz gaben 0.1480 gr AgCl
= 13.21 % HCl.

3. Peptonchlorhydrat C.

0.2577 gr Substanz gaben 0.1232 gr AgCl
= 8,76 % HCl.

Zwei infolge des überraschenden Resultates von Peptonchlorhydrat C vorgenommene Kontrollanalysen mit zwei verschiedenen neu dargestellten Substanzen, hatten folgendes als Ergebnis:

0.1255 gr Substanz gaben 0.0434 gr AgCl
= 8,79 % HCl.
0.2891 gr Substanz gaben 0.0973 gr AgCl
= 8.56 % HCl.

Diese Analysen bestätigen demnach das zuvor gefundene Resultat.

Vergleicht man die Salzsäure-Aufnahmefähigkeit der drei Peptone mit ihrem spez. Drehungsvermögen, so sieht man, die zuvor aufgestellte Behauptung, dass mit wachsendem Salzsäure-Gehalt die optische Activität abnimmt und umgekehrt mit abnehmendem Salzsäure-Gehalt dieselbe sich steigert, durch vorstehende Ergebnisse der Analysen wiederum auf's glänzendste bestätigt.

XII. Einwirkung von Eisenammoniakalaun auf die Peptone bei Gegenwart von überschüssigem Ammonsulfat.

Veranlasst durch die Arbeiten Siegfrieds[1]) und Scheermessers[2]) war es interessant zu untersuchen, wie sich die auf diese Art dargestellten Glutinpeptone gegen Eisenammoniakalaun bei Gegenwart von überschüssigem Ammonsulfat verhalten würden.

Es wurde deshalb je eine 20 % Lösung der Peptone bei 40° mit Ammonsulfat gesättigt.

Bei sämmtlichen drei Lösungen schied sich eine gewisse Menge Gelatosen ab.

Bei Pepton A und B in fester und bei Pepton C in öliger Form.

Letzteres wurde wahrscheinlich durch die Verseifung des Peptons C, welches ja wie früher nach-

1) Zeitschrift für physiol. Chemie Bd. XXXV. 164.
2) Zeitschrift für physiol. Chemie Band XLI. Heft 1 u. 268.

gewiesen, als ein Aethylester zu betrachten ist, hervorgerufen und es bestand demnach das Oel aus einer alkoholischen Gelatoselösung.

Nach Filtration der drei Lösungen wurde ein Teil derselben mit einer Lösung folgender Zusammensetzung versetzt.

Eisenammoniakalaun	1.0
Ammonsulfat	4.0
Wasser	5.0

Es gaben A und B eine geringe Fällung, während dieselbe bei C ausblieb.

Eine mit Ammonsulfat übersättigte Eisenalaunlösung gab jedoch mit B und C eine starke, klümperige Fällung, während dieselbe in diesem Masse bei A erst auf Zusatz von cryst. Ammonsulfat eintrat.

Die Niederschläge stimmten in ihrem Aussehen und Verhalten vollständig mit den von Siegfried und Scheermesser beschriebenen überein, waren jedoch viel zu gering, um eine quantitative Untersuchung zuzulassen.

XIII. Isolierung der gelatosefreien Glutinpeptone B und C.

Infolge der leichten Löslichkeit von Pepton B und C in Methyl- resp. Aethylalkohol war es leicht möglich, dieselben als gelatosefreie Peptone zu isolieren.

Nachdem nämlich je eine 30 % Lösung mit Ammonsulfat bei 40° gesättigt war, war es nur nötig, die filtrierten Lösungen in absolutem Methyl- resp. Aethylalkohol einzugiessen, um das gelöste Ammonsulfat auszufällen. Die alkoholische Lösung wurde bei 30°—40° im Vacuum getrocknet und wiederum in

absolutem Alkohol gelöst, wodurch die letzten Reste von Ammonsulfat entfernt wurden.

Die wiederum bei ca. 35° getrockneten Präparate waren in ihrer Farbe etwas heller als das Ausgangsmaterial und dabei ausserordentlich hygroskopisch.

Dass nunmehr vollständig gelatosefreies Pepton vorlag, wurde dadurch bestätigt, dass weder Ammonsulfat, noch mit Ammonsulfat gesättigte Schwefelsäure oder mit Ammonsulfat gesättigtes Ammoniak, einen Niederschlag in einer wässerigen Lösung der Peptone hervorrief.

Aeusserst leicht bilden sich jedoch aus den gelatosefreien Peptonen in wässeriger Lösung Gelatose zurück, und nach mehrtägigem Stehenlassen einer gelatosefreien Peptonlösung, war immer wieder neu gebildete Gelatose nachzuweisen.

XIV. Versuche mit den gelatosefreien Peptonen B. und C.

Sehr interessant musste es nunmehr sein, die Aufnahmefähigkeit an Salzsäure bei dem gelatosefreien Pepton C festzustellen.

Es wurde, wie bereits früher öfter geschehen, das Pepton mit alkoholischer HCl behandelt und darauf im Vacuum getrocknet.

Bei der Analyse gaben 0,1285 gr Substanz 0.0475 gr AgCl = 0.32 % HCl.

Es war also die Aufnahmefähigkeit an HCl etwas gestiegen und es stand zu erwarten, dass die optische Activität infolge dessen zurückgegangen war.

Eine Untersuchung des spezifischen Drehungsvermögens von Pepton C hatte folgendes Resultat:

1.4196 %
1.005 spez. Gewicht
2.27° Drehung
$\alpha_{(D)} = -79.6^{0}$.

Dieses Ergebnis bestätigte obige Annahme.

Die optische Aktivität des gelatosefreien Peptons B hatte sich, was in Anbetracht der geringen Menge vorhanden gewesener Gelatosen auch zu erwarten war, wenig verändert.

1.08 %
1.003 spez. Gewicht
1.2° Drehung
$\alpha_{(D)} = -55.9^{0}$.

Da beide Peptone mit Baryumchlorid in wässeriner Lösung noch eine Trübung gaben, so war also demnach ein Teil des Peptons, wie bereits früher schon beobachtet worden war, bei dem Behandeln mit Ammonsulfat in Peptonsulfat übergegangen.

Die entsprechenden Analysen hatten folgende Ergebnisse:

Pepton B.

0.2325 gr Substanz gaben 0.0035 gr $BaSO_4$
$= 0.78$ % H_2SO_4.

Pepton C.

0.2501 gr Substanz gaben 0.0043 gr $BaSO_4$
$= 0.73$ % H_2SO_4.

XV. Reaktionen der gelatosenfreien Peptone B. und C.

Die Peptone gaben mit den verschiedenen Reagentien folgende Reaktionen:

Reagenz	Pepton B	Pepton C
Jodquecksilber-kalium	positiv	positiv
Biuret	positiv	positiv
Phosphorwolfram-säure	starke, käsige Fällung	starke, käsige Fällung
Millon	negativ	negativ
Molisch	negativ	negativ
Aceton	wenig löslich	wenig löslich
Eisessig	löslich	löslich

XVI. Verhalten der aus Pepton C gewonnenen Gelatose.

Wie bereits früher mitgeteilt, schied sich bei dem Behandeln mit Ammonsulfat aus Pepton C eine grössere Menge Gelatose aus, welche gesammelt wurde, mittelst absolutem Alkohol vom Ammonsulfat befreit wurde und im Vacuum zur Trockne gebracht wurde.

Die erhaltenen gelb-braunen Lamellen waren sowohl in absolutem Aethyl- wie Methylelkohol löslich.

Vermittelst alkoholischer Salzsäure in ihr Chlorhydrat übergeführt, wurde folgender HCl-Gehalt gefunden:

0.1256 gr Substanz gaben 0,0337 gr AgCl
= 0.83 % HCl.

Infolge dieses niedrigen HCl-Gehaltes, war ein sehr hohes spezifisches Drehungsvermögen zu erwarten, welches durch folgendes Ergebnis bestätigt wurde.

1.1724 %
1.0033 spez. Gewicht
2.4° Drehung
$\alpha_{(D)} = -102.1^{0}$.

XVII. Molekulargewichtsbestimmungen der Gelatosefreien Peptone B und C, sowie der aus C isolierten Gelatose.

Gewicht der Substanz	Gewicht des Lösungsmittels	Depression	Molekulargewicht
Pepton B.			
0.2116 gr	19.5 gr	0.109°	184.2
Pepton C.			
0.2259 gr	18.5 gr	0.132°	171.3
Gelatose aus Pepton C.			
0.1964 gr	16.6 gr	0.103°	212.5
Chlorhydrat der Gelatose			$^1/_2$ Molekulargewicht
0.1658 gr	14.7 gr	0.165°	126.5

Die jetzt gefundenen Zahlen für die Molekulargewichte von Pepton B und C differieren wenig mit den früher für die betreffenden Peptone bestimmten Zahlen, ebenso standen die für die aus Pepton C isolierten Gelatose wie ihr Chlorhydrat gefundenen Werte in annehmbarem Verhältnis zu einander.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn

Professor C. Paal

für die liebenswürdige Unterstützung bei der Arbeit, für das bewiesene grosse Wohlwollen und Interesse meinen verbindlichsten und herzlichsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Verfasser vorliegender Arbeit, Otto Dormann, protestantischer Konfession, wurde geboren am 19. April 1876 zu Dierdorf in der preussischen Rheinprovinz als Sohn des jetzigen königl. preussischen Rechnungsrates Julius Dormann und seiner Gattin Emma, geb. Huth.

Nach Besuch der Gymnasien zu Neuwied a/Rhein und zu Trarbach a. d. Mosel, ergriff er den Apothekerberuf, welcher ihn im Sommermester 1900 nach München zum Studium führte und wo er im Winter-Semester 1901/02 seine pharmazeutische Staatsprüfung bestand.

Darauf trieb er Winter-Semester 1901/02 an der Universität München und vom Sommer-Semester 1902 an, an der Universität Erlangen naturwissenschaftliche Studien, besonders Chemie.

Im Winter-Semester 1902/03 bestand er das Verbandsexamen.